



## CRACチャネルの活性化とユージノールの効果

著者	伊藤 寿浩
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第15456号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/56676">http://hdl.handle.net/10097/56676</a>

# 論文内容要旨

氏 名 伊藤 寿浩

ユーギノールは歯髄鎮静・鎮痛作用と消毒作用があり，臨床では酸化亜鉛ユーギノールセメントとして仮封，直接覆髄法，間接覆髄法に用いられる．ユーギノールは電位依存性  $\text{Na}^+$ チャネル， $\text{K}^+$ チャネル， $\text{Ca}^{2+}$ チャネルや  $\text{P}_2\text{X}$  受容体の機能を抑制すること，カプサイシン受容体を遮断することが報告されている．歯髄充血や単純性歯髄炎などでは血管透過性が亢進し，閉鎖空間である歯髄腔内圧が高まることで歯の痛みは惹起される．血管拡張と血管透過性の亢進は神経性の調節の他，炎症性ケミカルメディエーターであるヒスタミン，セロトニン，ブラジキニン，カリジンやプロスタグランジンが引き起こす．炎症局所ではアラキドン酸の生成と代謝が亢進し，肥満細胞からの脱顆粒によりヒスタミンが遊離されている．アラキドン酸生成酵素ホスホリパーゼ  $\text{A}_2$  の活性や脱顆粒には細胞内でのカルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 濃度上昇が必要である．興奮性細胞に見られる電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルやリガンド作動性  $\text{Ca}^{2+}$ 透過型チャネルとは異なり，非興奮性細胞では細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ ストアが枯渇した時に開口する CRAC チャネルが細胞外から細胞内へ  $\text{Ca}^{2+}$ を流入させて， $\text{Ca}^{2+}$ 濃度上昇を引き起こしていると考えられる．現在までに CRAC チャネルに対するユーギノールの効果を検討した報告はない．本研究では肥満細胞のモデル細胞としてヒスタミン遊離の実験に用いられている Rat Basophilic Leukemia 2H3 (RBL-2H3) 細胞に発現する CRAC チャネルを介する  $\text{Ca}^{2+}$ 流入を惹起して，活性化経路を確認した．最後に，ユーギノールの CRAC チャネルに対する作用を検討した．

RBL-2H3 細胞は抗 DNP-IgE を含む培養液中で 16 時間， $37^\circ\text{C}$  で培養後，DNP-BSA を投与して，CRAC チャネル電流を記録した．CRAC チャネル電流の 2 つの特徴が綺麗に認められた．つまり，電流-電圧関係が内向き整流性を示し，逆転電位が 50 mV より脱分極側にあった． $\text{M1}$  受容体を強制発現させた RBL-2H3 細胞は 50  $\mu\text{M}$  のカルバコールを投与しても特徴的な CRAC チャネル電流が記録できた．更に，電極内液に  $\text{IP}_3$  を添加し細胞内に  $\text{IP}_3$  を灌流する，又は 10 mM BAPTA で細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  を強くキレートすると CRAC チャネル電流が記録できた．

CRAC チャネル電流はフェノールでは抑制できなかったが，ユーギノールでは 0.1 mM ~ 2 mM の狭い範囲で，濃度依存的に CRAC チャネル電流は抑制された．ユーギノールの  $\text{IC}_{50}$  値は 0.54 mM，ヒル係数は 2 であった．この  $\text{IC}_{50}$  値は電位依存性  $\text{Na}^+$ チャネルと電位依存性  $\text{K}^+$ チャネルの  $\text{IC}_{50}$  値と同程度であり，電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルの  $\text{IC}_{50}$  値より小さかった．歯科においてユーギノールは歯髄の鎮痛・鎮静効果があるとして用いられてきたが，炎症時に活性化する CRAC チャネルによる  $\text{Ca}^{2+}$ 流入を抑制することが薬理作用機序のひとつである可能性が示唆された．